

いずれにしても疾走痙攣は脳内遊離アンモニア濃度の増加によるものであることは明らかである。

結 論

1) INAH の中毒量 220mg/kg を雄マウスに脊部皮下注射した場合, 脳ブドウ糖は対照に比し減少したが, 血糖は対照に比し増大した。

2) 脳Glutamic dehydrogenase は, 活性の変動を示さなかった。

3) 脳内遊離アンモニアは疾走痙攣時明らかに増加した。したがって疾走痙攣は脳内遊離アンモニアの増加に基因するものと考えられる。

終りに本研究にあたり Seligson の拡散装置をお貸しいただいた岐阜医大乾教授ならびに終始御激励を賜った宮道学長並びに御便宜を与えられた加藤教授に深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) Benson: Am. Rev. Tuberc. **65**, 376 (1952).
- 2) Rubin, Thomas et Burke: ditto **65**, 332 (1952).
- 3) 杉浦, 山本: 薬学研究**31**, 607 (1959).
- 4) Nelson, N: J. Biol. Chem. **153**, 375 (1944).
- 5) Klein, J. R., Olsen, N. S.: J. Biol. Chem. **167**, 747 (1947).
- 6) 堀田, 桜井, 岡本: 日本生理誌**15**, 124 (1953).
- 7) 塚田, 高垣: 科学**24**, 572 (1945).
- 8) Benitez, D., Pscheidt, G. Stone, W. E.: Am. J. Physiol. **176**, 488 (1954).
- 9) Seligson, D., and Seligson, H.: J. Lab. and Clin. Med. **38**, 324 (1951).
- 10) Bessman, S. P. and Bessman, A. N.: J. Clin. Invest. **34**, 622 (1955).

杉浦 衛, 牧田浩和, 倉野紗知子: トリプトファン代謝に及ぼすPASの影響 (第2報)

PAS連続投与時におけるトリプトファン代謝産物の変動について

Mamoru Sugiura, Hirokazu Makita and Sachiko Kurano:

Studies on the Effect of PAS on the Tryptophane Metabolism. II.

Excretion of the Tryptophane Metabolites by Continuous Administration of PAS.

In the rat's urine after continuous administration of PAS, there was an increase of xanthurenic acid (XA) and anthranilic acid (AnA) and a decrease of N-methylnicotinamide (MNA) on tryptophane metabolites.

Besides there was some change of β -cell in the rat's langerhans islands.

¹⁾
前報において著者らは PAS 糖尿の本体を究明する手がかりとして PAS 連続投与時, 尿中に発現する螢光物質について検索を行った。その結果キサントレン酸 Xanthrenic acid (XA) の排泄を認め, PAS 長期投与による XA の排泄と血糖値低下がほぼ平衡関係にあることを見出し, PAS 投与時の副作用としての糖尿病発現に対しその一因になるのではないかと推察した。今回は, シロネズミに PAS を連続投与し, その尿中に排泄されるトリプトファン代謝産物, 即ちキヌレニン (Kyn), アントラニル酸 (AnA), キサントレン酸 (XA) および

N-メチルニコチンアミド(MNA)につき定量的観察を行った結果XA, AnAの排泄量は増加し, およびMNAは減少することを確認し, さらにシロネズミの膵臓ランゲルハンス氏島 β 細胞の変化につき興味ある事実を認めたのでここに報告する.

実験材料および実験方法

実験動物としては体重100g前後の雄性シロネズミを使用し, 対照には生理食塩液1.0mlを, 検体にはPAS-Na (0.02g/ml) 1.0mlを経口的に連日投与した. 飼料としては普通混合試料を与えて飼育し, トリプトファンは試験前日5.0mgを飼料に混ぜて与え, 採尿には遮光下に褐色びんを用い, これに安定剤として氷酢酸2.0ml, トルオール5.0mlを加え, 30日後と60日後の2度にわたり48時間尿を採取して実験に供した. AnAおよびKynはBratton-Marshallの谷変法²⁾³⁾, XAはGlazer-Mueller法⁴⁾, MNAはHuffの能勢-上田変法⁵⁾を用いて定した. さらに残尿を用いてペーパークロマトグラフィーを行った.

実験成績

1) アントラニル酸の排泄

PAS連続投与群は正常群に比較し尿中にAnAの著明な増加がみられた. この増加はトリプトファン添加のときはいずれも著明であったが, 30日後と60日後においては著変はみられなかった (Table I.).

Table I. Excretion of Anthranilic acid (unit μ g)

Control group			PAS group			
	Control	Control + L. Try	After 30 days		After 60 days	
			PAS	PAS + L. Try	PAS	PAS + L. Try
1	120	205	950	850	925	1210
2	80	250	780	1050	855	1025
3	135	210	825	980	830	1050
4	105	185	815	1120	940	1140
5	170	290	855	1065	920	1090
Average	122	228	845	1013	894	1103

2) キヌレニンの排泄

PAS連続投与群は正常群に比較して著明な差はみられなかったが, PAS投与群ではわずかに増加したように思われる. トリプトファン添加においても同じようである (Table II.).

Table II. Excretion of kynurenine (unit μ g)

Control group			PAS group			
	Control	Control + L. Try	After 30 days		After 60 days	
			PAS	PAS + L. Try	PAS	PAS + L. Try
1	80	105	70	115	120	210
2	60	115	120	125	145	120
3	80	90	110	180	125	195
4	95	95	135	150	140	105
5	70	100	80	145	90	130
Average	77	101	103	143	124	152

3) キサントレン酸の排泄

PAS 連続投与群の尿中には正常群に比較して XA の非常に著明な増加がみられ, PAS 単独投与時とトリプトファン添加の間には更に著しい差がみられた. 60 日後においては 30 日後よりやや多量の排泄をみることができた (TableⅢ.).

TableⅢ. Excretion of xanthurenic acid

(unit μg)

Control group			PAS group			
	Control	Control + L. Try	After 30days		After 60days	
			PAS	PAS+L. Try	PAS	PAS+L. Try
1	360	770				
2	220	680	1	595	1520	705
3	285	690	2	650	1805	850
4	480	760	3	830	2050	1020
5	280	850	4	785	1330	960
			5	970	1150	800
Average	325	750	Average	766	1571	867
						1792

4) N-メチルニコチンアミドの排泄

前三者とは全く逆に PAS 連続投与群では正常群に比較して MNA 排泄の著明な減少を示した. 30 日後と 60 日後においては大差はみられなかった (TableⅣ.).

TableⅣ. Excretion of N-methylnicotin amide

(unit μg)

Control group			PAS group			
	Control	Control + L. Try	After 30days		After 60days	
			PAS	PAS+L. Try	PAS	PAS+L. Try
1	590	685				
2	405	920	1	150	230	85
3	650	740	2	135	170	190
4	520	620	3	120	245	135
5	620	720	4	250	250	110
			5	95	160	150
Average	557	737	Average	150	211	134
						207

5) 濾紙クロマトグラフィー

減圧濃縮した尿を東洋濾紙の No. 51 に塗布し, *n*-ブタノール : HAc : H₂O (4 : 1 : 1) の展開溶媒を用いて 15 時間展開して得られたペーパークロマトグラフについて検索した. この濾紙の各スポットについて上の蛍光色を検し, 呈色反応を行い, この結果を Dalglish, 野上, 谷の成績と比較し, 推定した. PAS 投与群では AnA, XA と思われるスポットの増加が著明であった (FigⅡ.).

PAS 投与群では 8 個のスポットを認め, 特に 3-OH AnA と思われるスポット (Rf 0.82) の確認は興味深いものと考えられる. 各スポットの推定物質は TableⅤ. に示す通りである.

6) シロネズミの脾臓ランゲルハンス氏島 β -cell の変化

60 日後の実験シロネズミと対照シロネズミをともに同一状態のもとにクロロホルム麻酔後, 腹腔を開いて脾

Fig. II Fluorescent substances in urine

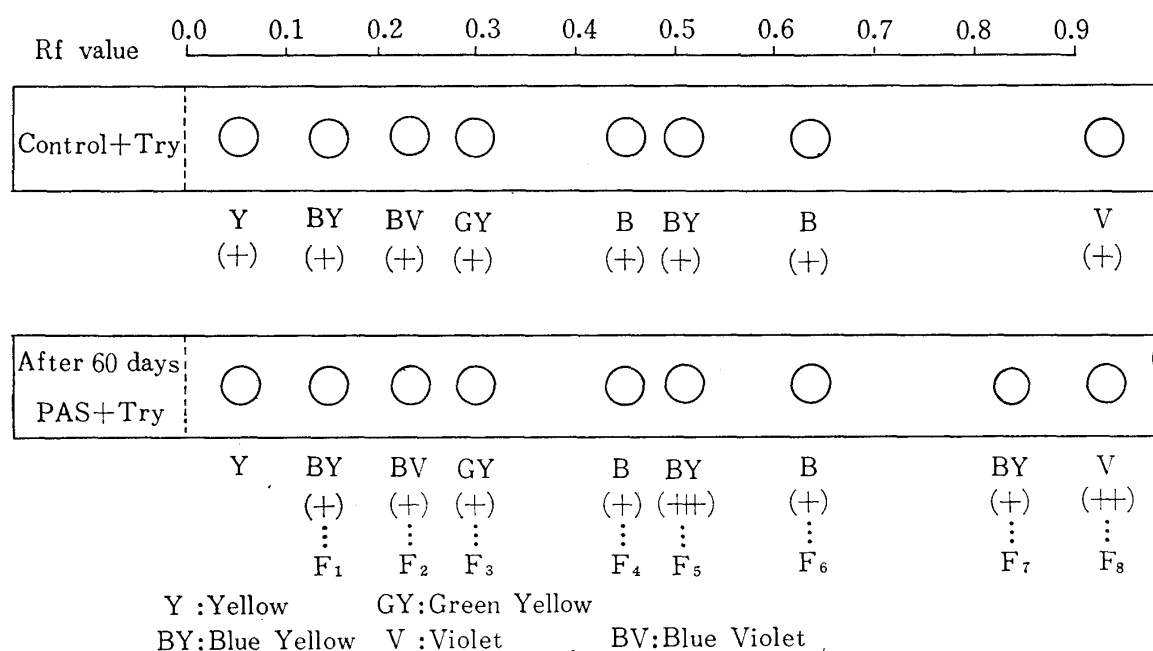


Table V. Qualitative reactions of fluorescent substances on filter paper

	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈
Rf Valve	0.16	0.23	0.27	0.45	0.50	0.62	0.82	0.93
Fluorescence	BY	BV	GY	B	BY	B	BY	V
Diazo	+	—	+	—	+	—	+	—
Blatton Marshall	—	—	—	+	—	—	—	+
Millon	—	—	—	—	+	—	—	—
Ninhydrin	+	—	Brown	+	—	—	—	+
NH ₃ 性AgNO ₃	+	—	+	—	+	—	+	+
FeCl ₃	—	—	—	—	+	—	—	—
Aldehyde	red	—	red	—	yellow	—	+	—
Substance assumed	3-OHK-Sulf	X. A-Sulf	3-OHK	Kyn	XA	KynA	3-OH AnA	AnA

部, 胃大湾部, 十二指腸部の3部より膵臓を採り, 直ちに固定液に投入した. 固定液としてはブアン液を用い, 固定後の材料をパラフィンで包埋し, 6 μ の連続切片を作り, Gomori のヘマトキシリン・フロキシシ法を施した. 検体5例, 対照4例から40枚の標本作製した. その結果は写真に示すように対照ラットの膵臓においては α -cell はランゲルハンス氏島の主として周辺部を占めて存在し, 核は大円形, 或は楕円形で原形質は微細顆粒状の赤色に淡染している. β -cell はランゲルハンス氏島の大部分に存在し, α -cell より核はやや小さく, その原形質は難染性で青色に染る微細顆粒を充満している. 一方PASを連日投与した実験ラットの膵臓では, α -cell にはほとんど変化は認められないが, β -cell のあるものにおいては, ヘマトキシリン染色顆粒の減少, 特に核の染色性の減退, およびその原形質のフロキシシによる染色が認められるため, 核と原形質の境界が判然としない (Fig. III.).

Fig. III. Change of β -cell in the rat's Langerhans islands
Experimental Pancreas Control Pancreas

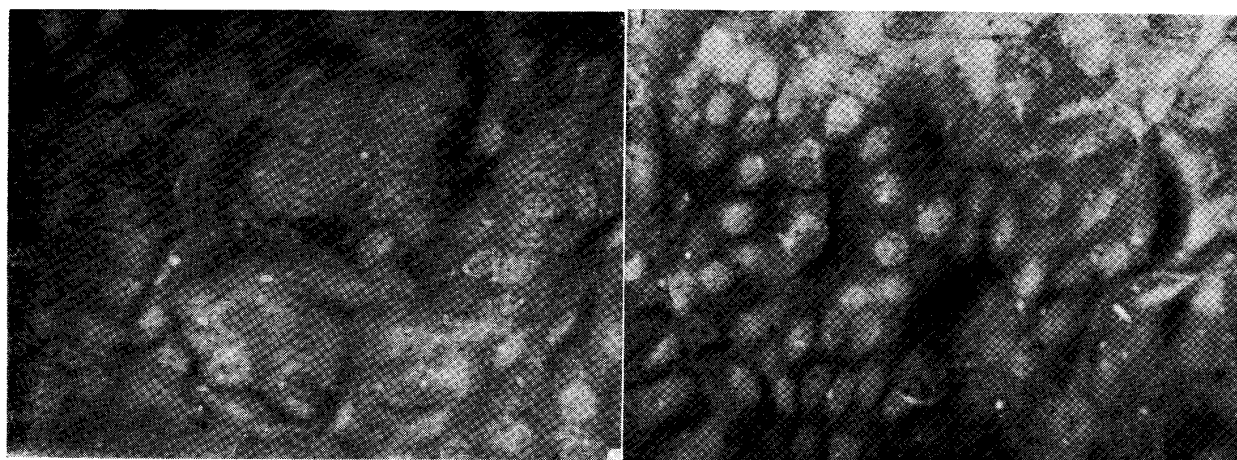
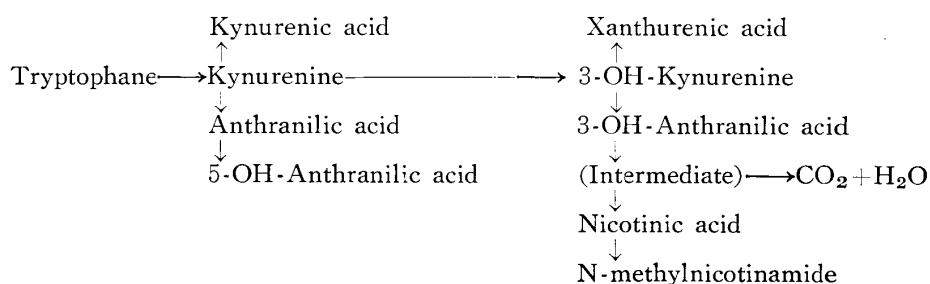


Fig. I Tryptophane metabolism



総括および考察

古武らによる Kyn の発見が源となってトリプトファンの研究は長足の進歩をとげ、いまやトリプトファンは代謝経路のよくわかっているアミノ酸の一つになっている。即ち Fig 1. に示すようにトリプトファンはKynを経てニコチン酸に、一方では AnA を経て 5-OH AnA に、他方では Kyn A に変化する。このうち 3-OH AnA から中間物を経て完全分解に至る経路が主な代謝過程である。さらに Musajo はトリプトファンの代謝産物として XA を発見している。著者らは先に PAS 連続投与時に異常な XA の排泄を認め、ついでトリプトファン代謝産物の定量的観察を行い、AnA, XA の尿中排泄増加および MNA の減少することを証明した。いずれにしても PAS 連続投与時に XA の異常排泄、トリプトファン代謝異常の起ることは興味ある問題であり、その作用機構の究明は今後の研究に待つべきものと考えられる。PAS長期投与による解剖所見も著明に現われ、⁶⁾古武の高脂肪、高蛋白質の長期投与による所見と一致し、恐らくは PAS 投与によりトリプトファンが異常代謝を起してXAが生成し、そのXAによる膵臓ランゲルハンス氏島 β -cell の病的変化と考えられる (Fig. III)。

結 論

PAS 連続投与シロネズミにトリプトファンを与え、その48時間尿について AnA, Kyn, XA および MNA の量を測定し、ペーパークロマトグラフィーにより代謝産物の検索を行った。ついで膵臓ランゲルハンス氏島 β -cell 変化を観察し、次のような結論を得た。

1) PAS 長期投与シロネズミ群においては正常群に比較し、XA, AnA の排泄量は増加し、MNA は減少した。Kyn にはあまり変化はなかった。

特に Rf 値 0.82 に 3-OH AnA と思われる新しいスポットを確認した。

2) ペーパークロマトグラフィーにおいては PAS 投与群では, AnA, XA のスポットの増強が著明であり, 特に Rf 値 0.82 に 3-OH AnA と思われる新しいスポットを確認した。

3) 正常群に比べ, PAS 投与群の解剖所見は α -cell にはほとんど変化を認めなかったが, β -cell の一部にヘマトキシリンの染色顆粒の減少, 即ち核の染色性の減退, 原形質のフロキシシンによる染色が認められた。

終りにのぞみ本研究にあたり病理解剖の労を煩わした岐阜医大解剖学教室磯野助教授, 終始御激励を賜った宮道学長並びに御便宜を与えられた加藤教授に謝意を表する。

文 献

- 1) 杉浦, 山本: 岐阜薬科大学紀要**9**, 66 (1959).
- 2) Bratton-Masshall. E. K.: J. Biol. Chem. **128**, 537 (1939).
- 3) 谷, 山本, 前田: 和歌山医学**6**, 521 (1955).
- 4) Glazen, H. S., Mueller, J. F., Thompson, C. Hawkins, V.R., Vilter, R.W.: Arch. Biochem. **33**, 243 (1951).
- 5) 能勢-上田: ビタミン**2**, 247 (1950).
- 6) 古武: 生化学**28**, 1 (1956), **29**, 795 (1957).